

平成19年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）  
食品中残留農薬等の汚染実態把握と急性暴露評価に関する研究  
分担研究報告書

畜水産食品中残留農薬及び動物用医薬品の包括的分析法の開発

分担研究者 坂井 隆敏 国立医薬品食品衛生研究所研究員

研究要旨

検査機関におけるより効率的な検査体制の確立を目的として、畜水産食品に基準が設定されている農薬及び動物用医薬品（農薬等）の包括的一斉分析法を開発する。

初年度である平成19年度は、既存の通知一斉試験法「LC/MSによる農薬等の一斉試験法（畜水産物）」及び「HPLCによる動物用医薬品の一斉試験法Ⅰ（畜水産物）」を基に、農薬試験法及び動物薬試験法における検討対象農薬等の抽出効率に関する基礎的データを収集する。以降、得られた知見をもとに、抽出法の改善及び精製法の追加を行い、畜水産食品中の残留農薬等の一斉試験法を開発する。

A. 研究目的

平成18年5月29日、食品に残留する農薬、飼料添加物及び動物用医薬品（農薬等）に関するいわゆるポジティブリスト制度が施行された。本制度の導入に伴い、農薬、動物用医薬品それぞれに対する一斉試験法の研究・開発がなされ、今日までに農薬について5種類、動物用医薬品について3種類の一斉試験法が通知されている。現在各検査機関においては、これら通知試験法を用いた食品中の残留農薬等の検査が実施されている。これら通知試験法は、いずれも農薬もしくは動物用医薬品どちらか一方のみを測定する試験法であり、農薬試験法で動物用医薬品が測定できるか、また動物用医薬品試験法で農薬が測定できるかについては、ほとんど検討がなされていない。

一方、動物用医薬品はもとより、農薬の中にも畜水産食品に基準値が設定されているものがあるため（約300農薬）、畜水産食品については農薬・動物用医薬品の両方を測定しなければならない。しかしながら、上述のように現在用いられている一斉試験法は農薬もしくは動物用医薬品のどちらか一方しか測定する事ができず、畜水産食品を検査する場合、現状では農薬試験法と動物用医薬品試験法を用いて2度の検査を行う必要がある。

農薬と動物用医薬品は、使用対象や使用方法などの点においては異なるものの、人の健康を損なうおそれがある化学物質という点においては同様であり、食品マトリックスが同じであれば、基本的には同様の分析法で測定する事が可能であると考えられる。農薬及び動物用医薬品両方を測定できる分析法が開発されれば、現在それぞれの試験法で2度行われている検査を1度に短

縮できる為、より効率的な食品の検査が可能になると考えられる。

本研究では、検査機関におけるより効率的な検査体制の確立を目的として、畜水産食品に基準値が設定されている農薬等を対象として、これらの包括的一斉分析法の開発を試みる。

B. 研究方法

本年度は、農薬試験法及び動物用医薬品試験法による農薬等の抽出効率に関する基礎的データの収集を行った。

すなわち、水/オクタノール分配係数対数値（log Pow値）を参考にして選択した農薬29種類、動物薬25種類、農薬且つ動物薬として使用される薬品（農薬/動物薬）18種類を対象として、既存の通知一斉試験法「LC/MSによる農薬等の一斉試験法（畜水産物）」及び「HPLCによる動物用医薬品の一斉試験法Ⅰ（畜水産物）」の抽出操作のみを行い、牛の筋肉及び肝臓試料からの抽出効率（%）を求めた。

実際の操作について、以下に示した。

農薬試験法：試料20.0 gを採り、水20 mLを加えてホモジナイズした後、アセトン及び*n*-ヘキサン（1：2）混液100 mLを加えて更にホモジナイズ後、毎分2500回転で5分間遠心分離を行った。有機層を採り、残留物に*n*-ヘキサン50 mLを加えてホモジナイズ後、遠心分離を行った。得られた有機層を合わせ、40℃以下で減圧乾固した。残留物にアセトニトリル30mL及びアセトニトリル飽和*n*-ヘキサン20 mLを加えて激しく振とうした後、アセトニトリル層を採った。*n*-ヘキサン層にアセトニトリル20 mLを加えて激しく振とうした後、アセトニトリル層を先に得られたアセトニトリル層と

合わせて40°C以下で減圧乾固した。残留物にアセトニトリル及び水(6:4)混液4.0 mLを加えて溶かし、これを試験溶液とした。

動物薬試験法：試料5.0 gを採り、アセトニトリル30 mL、アセトニトリル飽和*n*-ヘキサン20 mL及び無水硫酸ナトリウム10 gを加えてホモジナイズした後、毎分3000回転で5分間遠心分離を行い、有機層を得た。得られた有機層からアセトニトリル層を採り、*n*-ヘキサン層を遠心分離後の残留物に加え、更にアセトニトリル20 mLを加えて激しく振とうした後、遠心分離を行った。アセトニトリル層を採り、先に得られたアセトニトリル層を合わせ、*n*-プロパノール10 mLを加えて40°C以下で減圧乾固した。残留物にアセトニトリル及び水(6:4)混液1.0 mLを加えて溶かし、これを試験溶液とした。

両試験法において得られた試験溶液10 µLを高速液体クロマトグラフィー/質量分析(LC/MS)に供し、得られたピーク面積から各農薬等の抽出効率(%)を求めた。なお、両試験法はほとんど抽出操作のみであり、絶対検量線法による定量においては、試料のマトリックス効果によって正確な定量値が求められない場合もあることから、標準添加法及びマトリックス検量線法を用いて定量を行い、抽出効率(%)を算出した。

また、本研究で対象とした動物薬試験法「HPLCによる動物用医薬品の一斉試験法I(畜水産物)」については、抽出及び精製(脱脂)操作の全てを行っているが、農薬試験法「LC/MSによる農薬等の一斉試験法(畜水産物)」については、本年度の研究目的が抽出法の選定であることから、抽出操作以降のゲル浸透クロマトグラフィーやミニカラムを用いた精製を省略している。しかしながら、抽出操作のみでは減圧乾固後の残留物に多量の脂肪分が残っており、測定妨害となることが考えられるため、アセトニトリル/*n*-ヘキサン分配による脱脂操作のみを追加した。極性の低い農薬等、すなわち高いlog Pow値を有する農薬等については、この分配操作において*n*-ヘキサン層に移行する可能性を考えられるため、各検討農薬等のアセトニトリル層中及び*n*-ヘキサン層中の濃度を調べた。

すなわち、アセトニトリル30 mL及びアセトニトリル飽和*n*-ヘキサン20 mLに検討農薬等を添加し、激しく振とうした。静置後、アセトニトリル層を採り、*n*-ヘキサン層にアセトニトリル20 mLを加えて再度激しく振とうした。静置後、アセトニトリル層を先に得られたアセトニトリル層と合わせた。アセトニトリル層及び*n*-ヘキサン層

を40°C以下で減圧乾固した後、得られた残留物にそれぞれアセトニトリル及び水(6:4)混液1.0 mLを加えて溶かした。それぞれの溶液10 µLをLC/MSに供し、検討農薬等のアセトニトリル層中と*n*-ヘキサン層中の濃度を求めた。

本研究で用いた測定機器及び測定条件について以下に示した。

・高速液体クロマトグラフ(Alliance 269 5, Waters製)

分析カラム: Mightysil RP-18 GP (150×3 mm, 3 µm, 関東化学株式会社製)

カラム温度: 40°C

移動相: 0.1%ギ酸(A)及びアセトニトリル(B)

グラジエント(*t*:時間(分)):  $t_0, B=1\%$ ;  $t_5, B=2\%$ ;  $t_{10}, B=5\%$ ;  $t_{15}, B=10\%$ ;  $t_{20}, B=25\%$ ;  $t_{25}, B=45\%$ ;  $t_{30}, B=70\%$ ;  $t_{35}, B=100\%$ ;  $t_{40}, B=100\%$ ;  $t_{40.1}, B=1\%$ ;  $t_{50}, B=1\%$

流速: 0.4 mL/min

注入量: 10 µL

・質量分析計(Micromass ZQ 2000, Waters製)

ソース温度: 100°C

脱溶媒温度: 350°C

窒素ガス流量: 700 L/hr

キャピラリー電圧: 3.5 kV(ポジティブイオンモード), 3.0 kV(ネガティブイオンモード)

イオン化法: エレクトロスプレーイオン化法

なお、倫理面への配慮については、人及び動物を用いた実験は含まれていない為、特に必要としない。

### C. 研究結果

まず、アセトニトリル/*n*-ヘキサン分配における検討農薬等の各層中への移行率について調べた。その結果、最もヘキサン層中の濃度が高かった動物薬メロキシカムにおいても、*n*-ヘキサン層中の濃度は添加濃度の6%程度であり、食品由来のマトリックス成分が存在しない場合には、アセトニトリル/*n*-ヘキサン分配において検討農薬等のほとんどはアセトニトリル層に移行していることが明らかとなった。

次に、今回検討を行った農薬試験法及び動物薬試験法の抽出操作において得られた結果について以下に記した。

農薬試験法における抽出操作において、農薬及び農薬/動物薬に関しては、log Pow値1以上の場合には比較的良好な抽出効率を得られた。しかしながら、動物薬に関しては、log Pow値にかかわらずほとんどのものが低い抽出効率であった(図1及び2)。また、試料による抽出効率に関しては、筋肉

及び肝臓で得られた結果にほとんど差は認められなかった。

一方、動物薬試験法においては、農薬、農薬/動物薬及び動物薬にかかわらず、広範囲のlog Pow値の農薬等を抽出可能であることが明示された(図3及び4)。しかしながら、筋肉試料においては極めて良好な抽出効率であったものの、肝臓試料においては抽出効率が低下する傾向が認められた。

#### D. 考察

アセトニトリル/*n*-ヘキサン分配における検討農薬等の各層中への移行率について、実試料の場合にはマトリックスの影響によりアセトニトリル層及び*n*-ヘキサン層への移行率が異なる可能性も考えられるが、そのほとんどはアセトニトリル/*n*-ヘキサン分配においてアセトニトリル層中に移行しているものと推察された。したがって、減圧乾固中における分解や揮散等による損失がない限り、今回検討を行った農薬試験法及び動物薬試験法の抽出操作により得られた試験溶液中の各検討農薬等の濃度から、正確な抽出効率を求めることが可能であると考えられる。

農薬試験法における抽出操作において、動物薬についてはlog Pow値にかかわらず抽出効率が低く、その多くは水層に移行しているものと推察された。一般的な農薬等については、log Pow値2~3以上のものは脂溶性とされ、アセトン/*n*-ヘキサン中に移行するものと考えられているが、本研究において選択した動物薬についてはその傾向は認められなかった。この結果が、今回選択した動物薬のみで生じるものであるか、また、動物薬全般で生じるものであるかは明らかではないが、水、アセトン及び*n*-ヘキサンを用いた抽出においては、遠心分離後の水層からlog Pow値の低い農薬及び農薬/動物薬、また広範囲のlog Pow値の動物薬を更に抽出する操作が必須である。また、筋肉と肝臓で得られた結果にほとんど差が認められなかったことから、抽出効率が良好であった農薬等に限れば、本抽出法は広範囲の試料に対して適用可能であることが示唆された。

一方、動物薬試験法においては、筋肉試料の場合は検討農薬等のほとんどが良好な抽出効率であったが、肝臓試料の場合は抽出効率が低下する傾向が認められた。したがって、肝臓以上に複雑なマトリックス成分を有する試料においては、更に抽出効率が低下する可能性も示唆されるため、抽出溶媒等について若干の変更を加える必要があると推察された。

#### E. 結論

アセトニトリル/*n*-ヘキサン分配による脱脂操作において、検討農薬等のほとんどはアセトニトリル層に移行したことから、今回検討した農薬試験法及び動物薬試験法の抽出操作で得られた試験溶液中の各農薬等の濃度を測定することにより、両試験法による各検討農薬等の正確な抽出効率を求めることが可能であると推察された。

実際の抽出操作に関して、農薬試験法、すなわち、水、アセトン及び*n*-ヘキサンを用いた抽出においては、log Pow値1.0以上の農薬及び農薬/動物薬に対して比較的良好な抽出が可能であった。また、これらの農薬等については、試料が筋肉と肝臓の場合でも抽出効率にほとんど変化は認められなかった。しかしながら、動物薬に対してはlog Pow値にかかわらず低い抽出効率であった。

一方、動物薬試験法、すなわち、アセトニトリル及び*n*-ヘキサンを用いた抽出においては、農薬、農薬/動物薬及び動物薬にかかわらず、広範囲のlog Pow値の農薬等を抽出することが可能であった。しかしながら、肝臓試料においては抽出効率が低下する傾向が確認された。

以上の結果から得られた知見をもとに、次年度である平成20年度は以下のように試験法の開発を進める。まず、水、アセトン及び*n*-ヘキサンを用いた抽出法については、抽出効率の低かった動物薬やlog Pow値の低い農薬及び農薬/動物薬の抽出効率の向上を目指し、水層からこれら農薬等を抽出する方法を検討する。また、アセトニトリル及び*n*-ヘキサンを用いた抽出法については、より複雑なマトリックスを有する試料においても抽出効率が低下しないよう、抽出溶媒の検討を試みる。改良を加えた両抽出法のうち、より広範囲のlog Pow値の農薬等を抽出可能、且つ、より広範囲の試料に適用可能な抽出法を選択後、更に絶対検量線による定量が可能となるよう各種精製方法の追加を図り、畜水産食品中残留農薬等の一斉分析法の開発を目指す。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

特になし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表1 各検討農薬等のlog Pow値, 保持時間, 分子量 (MW), 測定イオン (m/z) 及びイオン化モード

動物薬	log Pow	保持時間 (min)	MW	m/z	イオン化モード	農薬	log Pow	保持時間 (min)	MW	m/z	イオン化モード
セフロキシム	-0.16	24.4	424.4	423.0	negative	アジュラム	-0.27	15.4	230.2	229.0	negative
スルファジアジン	-0.09	14.6	250.3	251.0	positive	チアメトキサム	-0.13	22.1	291.7	291.9	positive
スルファチアゾール	0.05	17.6	255.3	255.9	positive	イミダクロプリド	0.57	24.3	255.7	255.9	positive
ジニトルミド	0.19	24.2	225.2	225.9	positive	アセタミプリド	0.80	25.2	222.7	222.9	positive
スルファピリジン	0.35	18.3	249.3	249.9	positive	アルジカルブ	1.13	26.9	190.3	157.0	positive
セファレキシム	0.65	20.3	347.4	347.9	positive	トリフルミゾール	1.40	35.1	345.8	345.9	positive
ジフロキサシン	0.89	22.7	399.4	400.0	positive	ピリミカルブ	1.70	23.2	238.3	239.0	positive
サラフロキサシン	1.07	22.6	385.4	386.0	positive	ヘキサジノン	1.85	27.2	252.3	253.0	positive
スルファベンズアミド	1.30	26.3	276.3	277.0	positive	ブトロキシジム	1.90	36.9	399.5	400.1	positive
デキサメタゾン	1.83	28.6	392.5	393.0	positive	シマジン	2.18	27.8	201.7	202.0	positive
エトパベート	1.90	26.7	237.3	237.9	positive	イソキサフルトール	2.32	32.4	359.3	359.9	positive
フェノキシメチルペニシリン	2.09	29.3	350.4	351.0	positive	ブリミスルフロメチル	2.41	32.8	468.3	468.8	positive
スルファニトラン	2.26	28.8	335.3	336.0	positive	イマザピックアンモニウム	2.47	24.7	275.3	276.0	positive
ブラジクアンテル	2.42	30.9	312.4	313.1	positive	エトキシスルフロ	2.89	32.4	398.4	398.9	positive
クロピドール	2.71	16.7	192.0	191.9	positive	アメトリン	2.98	27.6	227.3	228.0	positive
エリスロマイシン	3.06	26.0	733.9	734.5	positive	フルフェナセット	3.20	33.9	363.3	363.9	positive
メシリナム	3.09	22.0	325.4	326.0	positive	フラムプロップメチル	3.33	33.3	335.8	335.9	positive
メロキシカム	3.43	31.2	351.4	351.9	positive	バーバン	3.41	33.2	258.1	257.9	positive
カラゾール	3.59	24.0	298.4	299.1	positive	ブロメトリン	3.51	29.6	241.4	242.0	positive
キシラジン	4.52	21.9	220.3	221.0	positive	メトキシフェノジド	3.70	33.2	368.5	313.0	positive
トルフェナム酸	5.17	34.8	261.7	262.0	positive	ピラクロストロピン	3.99	35.1	387.8	387.9	positive
ピチオノール	5.91	36.8	356.1	354.7	negative	ペンアラカルブ	4.30	36.5	410.5	411.0	positive
オキシクロザニド	6.04	34.3	401.5	401.8	positive	トリフロキシストロピン	4.50	35.8	408.4	409.0	positive
デコキネート	7.8	36.6	417.5	418.2	positive	キノキシフェン	4.66	36.4	308.1	309.8	positive
ラフォキサニド	8.14	38.1	626.0	497.8	negative	クロキントセットメキシル	5.03	36.1	335.8	336.0	positive
農薬/動物薬	log Pow	保持時間 (min)	MW	m/z	イオン化モード	ルフェヌロン	5.12	36.2	511.2	508.9	negative
シロマジン	-0.06	2.5	166.2	167.0	positive	ガルボスルファン	5.57	29.1	380.6	222.0	positive
トリクロルホン	0.51	23.2	257.4	258.8	positive	エトキサゾール	5.59	37.4	359.4	361.0	positive
オキシリニック酸	0.94	26.0	261.2	261.9	positive	ピリダベン	6.37	38.1	364.9	365.0	positive
プロボキスル	1.52	29.0	209.2	210.0	positive						
チアベンダゾール	2.47	18.1	201.3	201.9	positive						
ワルファリン	2.60	31.7	308.3	308.9	positive						
フェノブカルブ	2.78	32.0	207.3	208.0	positive						
イソプロチオラン	2.88	33.6	290.4	290.9	positive						
ダイアジノン	3.81	35.3	304.3	305.0	positive						
エトキシキン	3.87	29.9	217.3	218.0	positive						
ジフルベンズロン	3.88	33.3	310.7	310.9	positive						
ホキシム	4.39	35.4	298.3	298.9	positive						
チアムリン	4.75	26.9	493.7	494.1	positive						
アレスリン	4.78	36.9	302.4	303.0	positive						
エマメクチン (8,9-E)	5.00	31.2	885.5	886.5	positive						
エマメクチン (8,9-Z)	5.00	31.7	885.5	886.6	positive						
ペルメトリン	6.5	38.5	391.3	242.0	positive						
シハロトリン	6.8	37.9	449.9	448.0	negative						

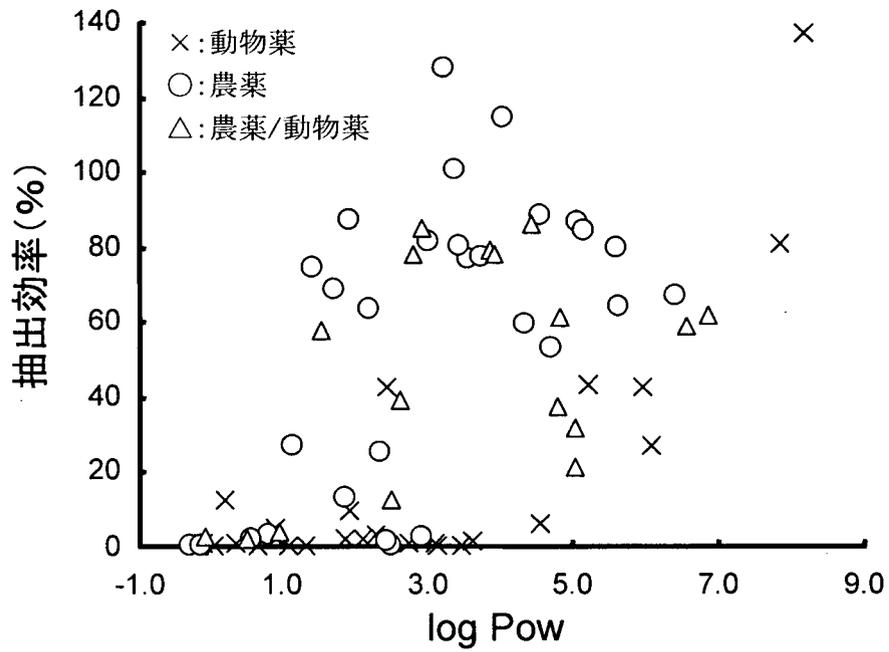


図1. 水、アセトン及び $n$ -ヘキサンを用いた抽出法による筋肉試料からの農薬等の抽出効率

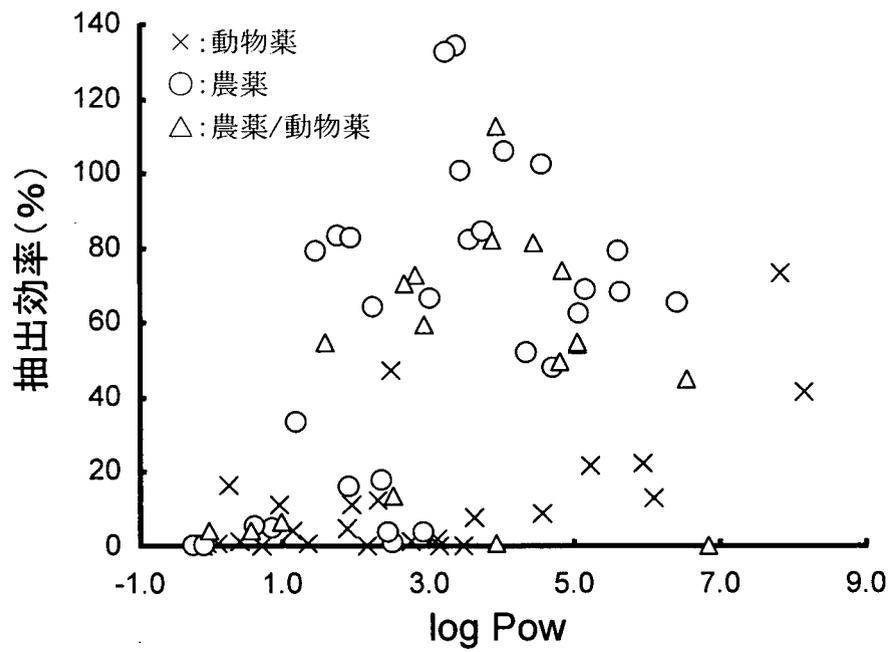


図2. 水、アセトン及び $n$ -ヘキサンを用いた抽出法による肝臓試料からの農薬等の抽出効率

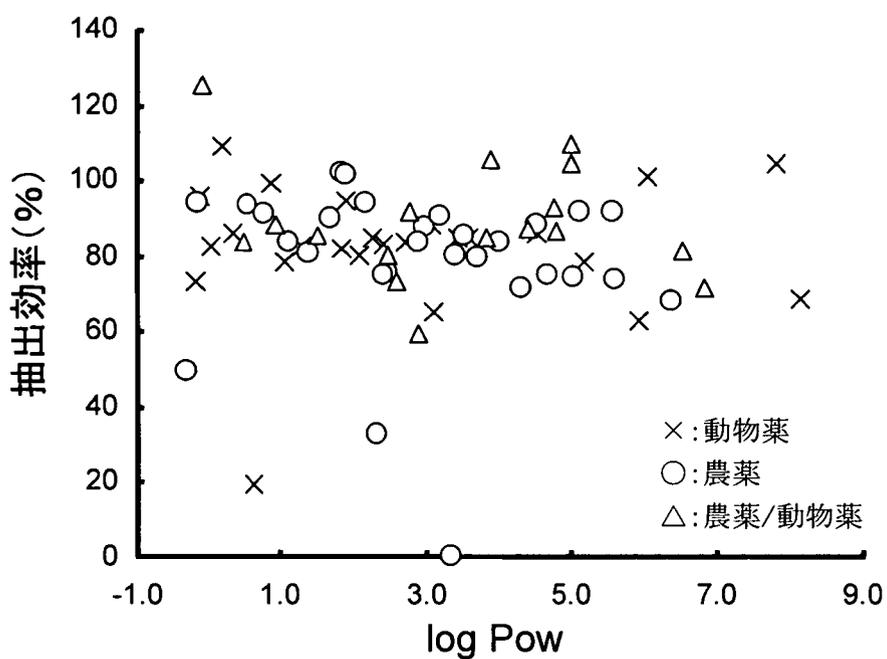


図 3. アセトニトリル及び $n$ -ヘキサンを用いた抽出法による肝臓試料からの農薬等の抽出効率

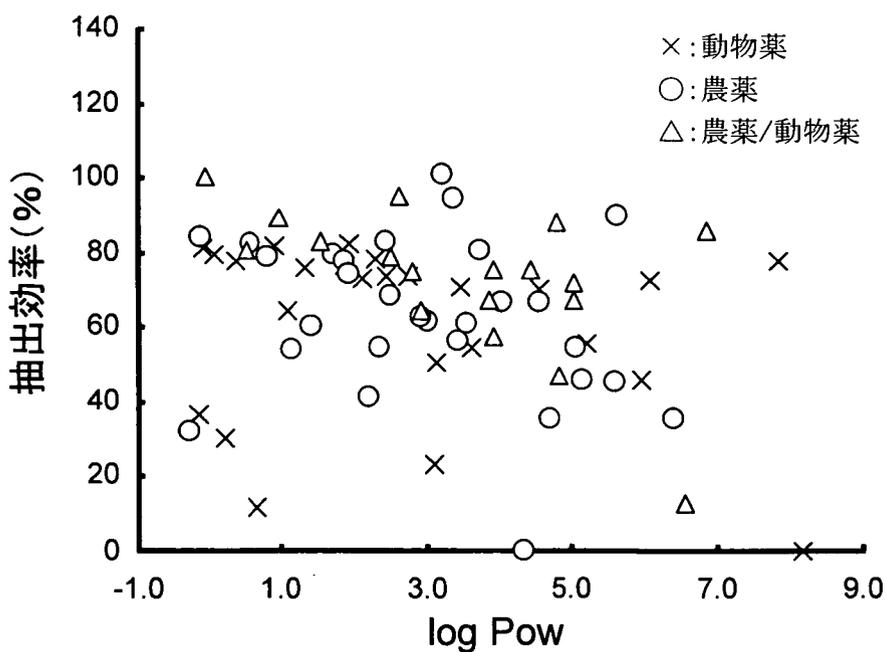


図 4. アセトニトリル及び $n$ -ヘキサンを用いた抽出法による肝臓試料からの農薬等の抽出効率

## Ⅱ. 分担研究報告書

### 3. 農産物中残留農薬の GC・LC 併用による残留実態解析

分担研究者 米谷民雄

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）  
平成19年度分担研究報告書

農産物中残留農薬のGC・LC併用による残留実態解析

分担研究者 米谷民雄 国立医薬品食品衛生研究所 食品部長

研究要旨

農産物中の残留農薬として、どれくらいの種類の農薬が残留しているかのデータを、GCおよびLCを併用して収集することを目的とした。同一農産物について異なる地域からの3製品のコンポジット試料を25種作成し、GC/MSとLC/MSによる一斉試験法を用いて、429成分の残留農薬分析を実施した。その結果、定量限界とした0.01 ppm未満でも確実に検出されたものを含め、25コンポジット試料の平均で、1コンポジット試料当たり3種の農薬が検出された。コンポジット試料のため個別製品と比べ濃度が1/3になり、検出できなくなった農薬がある可能性がある一方、異なる3地域の製品で違った農薬が残留している場合には、同時に検出されてくる可能性がある。検出された残留農薬の数が限られていることから、少なくとも国産品について分析する場合には、使用した農薬の情報をいかに入手し的確に分析するかが重要と考えられた。

A. 研究目的

農薬等のポジティブリスト制度の導入により、基準値が設定された農薬等の数が大幅に増加し、スタート時には799に達している。それら農薬等については、当然ながら分析対象化合物の極性により、GC測定が適しているものとLC測定が適しているものがある。そのため、農薬の残留実態を調査するためには、両法を併用する必要がある。そこで、どれくらいの種類の農薬が農産物中に残留しているかのデータを収集するために、GC/MSおよびLC/MSによる一斉試験法を用いて、残留農薬を調査した。同一農産物でも各製品の栽培に実際に使われた農薬が異なることも考え、異なる3地域からの製品のコンポジット試料を作成し分析した。

B. 研究方法

国内で市販されている国産（中国産の野菜と同種のものを含めて20種）および中国産（5種）の野菜について、異なる地域・業者

の3製品を購入し、同一農産物3製品のコンポジット試料を作成し、GC/MSおよびLC/MSによる一斉試験法を併用して、残留農薬を分析した。なお、国産品は生鮮品、中国産は冷凍品を入手した。国産については容器包装の表示または店舗における掲示により確認した。中国産については、すべて容器包装の表示により確認した。

実際の分析は、(株)住化分析センターに委託して実施した。同社では、厚生労働省が通知したポジティブリスト制度のための3つの一斉試験法に準じた方法により分析を実施している。すなわち、GC/MSによる農薬等の一斉試験法（農産物）をもとに193農薬、LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ（農産物）をもとに185農薬、LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ（農産物）をもとに51農薬の分析を実施している。合計429成分である。

図1と図2に分析法のフローチャートを示す。また、分析条件を以下に記す。

GC-MS 測定条件：カラム；DB-5MS 0.25mm  
φ×30m 0.25mm 膜圧（J&W 社製）、キャリ  
アガス；He、注入量；2.0 μL。

LC-MS/MS 測定条件 I：カラム；AQUITY UPLC  
™ BEH C<sub>18</sub> (1.7 μm) 2.1 x 10mm (Waters  
社製)、移動層；Solvent A: 5mM ammonium  
acetate Solvent B: MeOH、注入量；10 μL。

LC-MS/MS 測定条件 II：カラム；AQUITY UPLC  
™ BEH C<sub>18</sub> (1.7 μm) 2.1 x 10mm (Waters 社  
製)、移動層；Solvent A: ultra pure water  
Solvent B: 0.1% formic acid in MeOH、注  
入量；10 μL。

### C. 研究結果

1 作物につき 3 地域のもの入手し混合し、GC/MS および LC/MS により残留農薬の数と種類を調べた。分析委託先では定量限界を 0.01 ppm と設定していたが、それ未満でも検出された農薬をカウントするため、以下の基準をクリアしたものは、trace として検出数に含めた。すなわち、試料と標準品につき、定量イオンと確認イオンのピーク面積比を算出し、それぞれの比の相対値が 0.7~1.3 の範囲にあれば検出が確認されたとした。

各コンポジット試料から検出された農薬を表 1 に示す。trace も含め、25 コンポジット試料の平均で、1 コンポジット試料当たり 3 種 (3.0 種) の農薬が検出された。最高の 8 農薬が検出された試料が 2 試料あったが、一方では、一つの農薬も検出されなかった試料が 6 試料あった。最も頻度が高かったのは、平均値と同じ検出農薬数 3 の場合で、8 試料あった。なお、中国産 (No.1~5) では合計 12 農薬が検出された (5 試料平均で 2.4 農薬) が、国産の同一野菜 (No.6~10) でも同じく 12 農薬が検出されており、農薬名は異なるが数としては同じであった。

### D. 考察

1 コンポジット試料当たり、3.0 種の農薬が検出された。一方、総検査項目当たりの検出率を計算すると、総検査数=検体数×項目数 = 25 × 429=10725、検出農薬数 74 (0.01ppm 以上 44、trace30)、測定不能数

=290 から、trace を含んだ検出率は 0.71% となった。

コンポジット試料のため個別製品と比べ濃度が 1/3 になり、検出できなくなる農薬がある一方で、異なる 3 地域の製品で違った農薬が残留している場合には、同時に検出される可能性がある。一長一短ではあるが、どれ位の種類の農薬が残留しているかを調査する今回の目的では、コンポジット試料作成を選択した。

### E. 結論

GC/MS および LC/MS による一斉試験法により、20 種の野菜中に残存している残留農薬の数と種類を、コンポジット試料を作成して調べた。その結果、各試料平均すると 3 農薬が検出された。今年度は野菜についての分析であったが、残留農薬の数が限られていることから、少なくとも国産品について分析する場合には、使用した農薬の情報をいかに入手し的確に分析するかが重要と考えられた。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) 米谷民雄:農薬等のポジティブリスト制度の告示及びその後の対応と海外の動き 食衛誌, 48(6), J402-J410 (2007)

#### 2. 学会発表

なし

### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

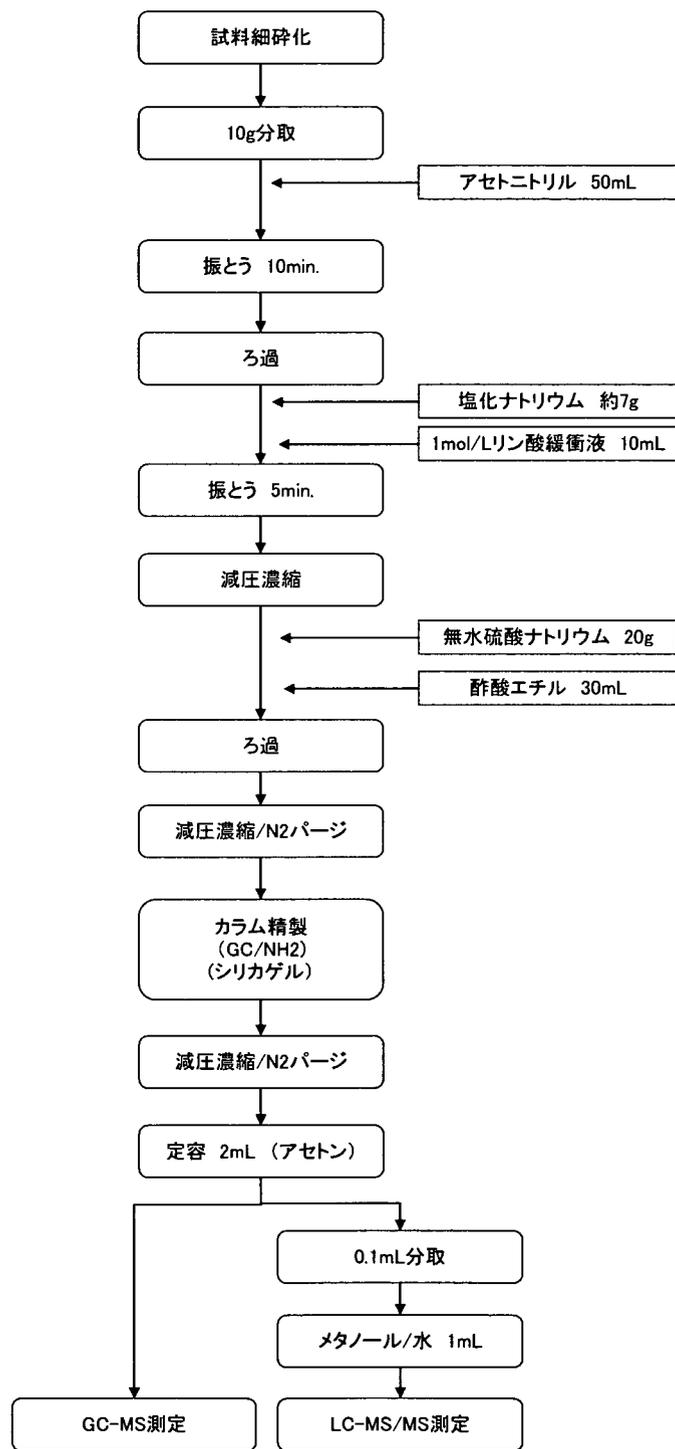


図1. 分析法フローチャート I

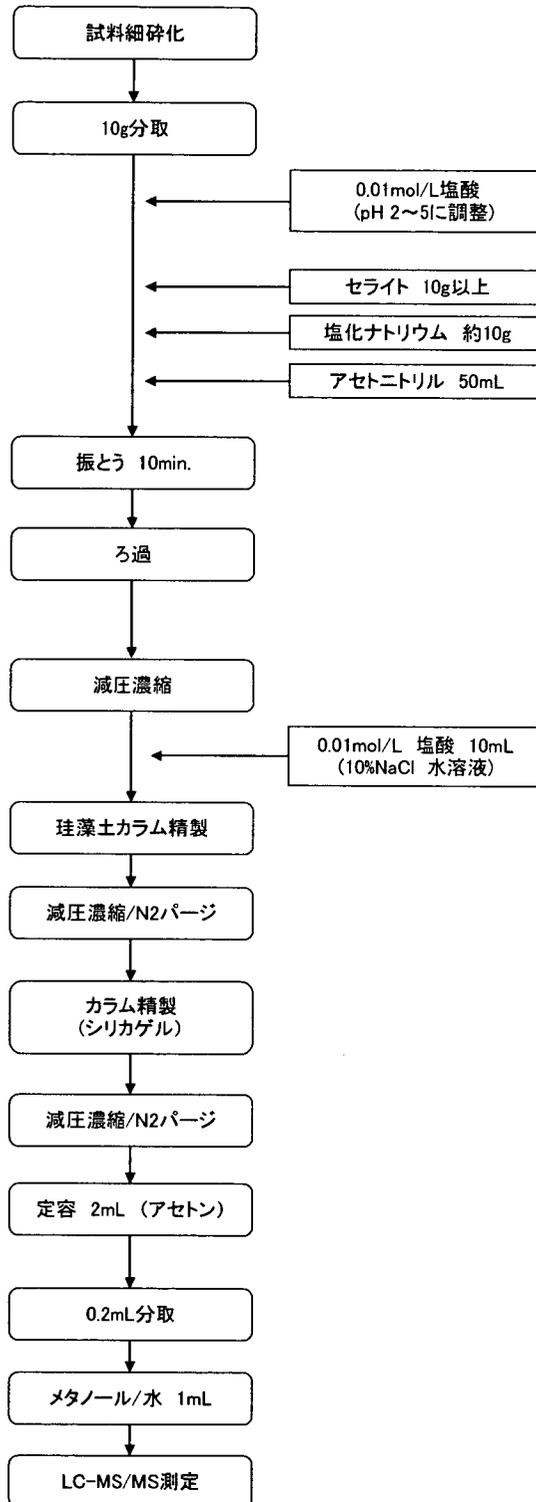


図2. 分析法フローチャートII

表 1. 検出農薬一覧

No. 1	試料名
こまつな (中国産)	
項目	
46	イミダクロプリド
114	クロルフェナピル
153	シハロトリン
165	シペルメトリン
174	ジメトモルフ
408	メトキシフェノジド

No. 2	試料名
さといも (中国産)	
項目	
検出なし	

No. 3	試料名
ねぎ (中国産)	
項目	
46	イミダクロプリド
338	プロシミドン
408	メトキシフェノジド

No. 4	試料名
ブロッコリー (中国産)	
項目	
検出なし	

No. 5	試料名
ほうれんそう (中国産)	
項目	
18	アセタミプリド
46	イミダクロプリド
259	ビフェントリン

No. 6	試料名
こまつな (国内産)	
項目	
104	クロマフェノジド
114	クロルフェナピル
419	メプロニル

No. 7	試料名
さといも (国内産)	
項目	
46	イミダクロプリド

No. 8	試料名
ねぎ (国内産)	
項目	
46	イミダクロプリド
101	クロチアニジン
152	ジノテフラン
196	チアメトキサム
327	フルトラニル

No. 9	試料名
ブロッコリー (国内産)	
項目	
検出なし	

No. 10	試料名
ほうれんそう (国内産)	
項目	
46	イミダクロプリド
101	クロチアニジン
152	ジノテフラン

No. 11	試料名
いちご (国内産)	
項目	
18	アセタミプリド
20	アゾキシストロビン
40	イプロジオン
46	イミダクロプリド
59	エトキサゾール
229	トリフルミゾール
387	ボスカリド
396	ミクロブタニル

No. 16	試料名
かんしょ (国内産)	
項目	
検出なし	

No. 17	試料名
ばれいしょ (国内産)	
項目	
399	メソミル
404	メタラキシル
422	モリネート

No. 12	試料名
未成熟いんげん (国内産)	
項目	
18	アセタミプリド
62	エトフェンプロックス
322	フルジオキシニル
331	フルフェノクスロン

No. 18	試料名
だいこん (国内産)	
項目	
388	ホスチアゼート

No. 13	試料名
キャベツ (国内産)	
項目	
検出なし	

No. 19	試料名
日本なし (国内産)	
項目	
97	クレソキシムメチル
143	ジクロルプロップ
340	プロチオホス

No. 14	試料名
きゅうり (国内産)	
項目	
124	シアゾファミド
129	ジエトフェンカルブ
196	チアメトキサム
338	プロシミドン
387	ボスカリド

No. 20	試料名
なす (国内産)	
項目	
20	アゾキシストロビン
46	イミダクロプリド
114	クロルフェナピル
152	ジノテフラン
180	スピノサド
192	チアクロプリド
242	ニテンピラム
338	プロシミドン

No. 15	試料名
ごぼう (国内産)	
項目	
340	プロチオホス

No. 21	試料名
にんじん (国内産)	
項目	
検出なし	

No. 22	試料名
はくさい (国内産)	
項目	
5	EPN
40	イプロジオン
46	イミダクロプリド

No. 23	試料名
みかん (国内産)	
項目	
5	EPN
37	イソフェンホス
46	イミダクロプリド
152	ジノテフラン

No. 24	試料名
りんご (国内産)	
項目	
18	アセタミプリド
97	クレソキシムメチル
112	クロルピリホス
164	シプロジニル
192	チアクロプリド
211	テブフェンピラド
302	フェンプロパトリン

No. 25	試料名
レタス (国内産)	
項目	
18	アセタミプリド
114	クロルフェナピル
338	プロシミドン

## Ⅱ. 分担研究報告書

### 4. 残留農薬等の急性暴露評価手法の検討

—残留農薬等暴露量推定のための食品摂取量データベースの検討—

分担研究者 吉池 信男

## 残留農薬等暴露量推定のための食品摂取量データベースの検討

分担研究者 吉池 信男 独立行政法人国立健康・栄養研究所研究企画評価主幹  
研究協力者 山田 友紀子 農林水産省大臣官房審議官 消費・安全局担当  
石脇 亜紗子 お茶の水女子大学大学院生活環境研究センター  
由田 克士 独立行政法人国立健康・栄養研究所栄養疫学プログラム

### 研究要旨

食品中に残留する農薬、重金属、及び食品添加物等の化学物質の暴露評価を行うことは、食品安全分野におけるリスクアセスメントの重要課題の一つであり、これらの物質を食品からどのくらい摂取しているかを把握するためには、長期慢性影響と急性影響の2つの観点から個々の食品についての詳細な摂取量データが必要である。慢性的暴露評価を行う際には、通常行われる1日から数日間の摂取量データではなく、習慣的な摂取量データを得ることが必要である。一方、急性暴露評価を行うためには、ある特定の食品の「多食者」が1日にどの程度の量を摂取するかを把握する必要がある。しかし、大規模な集団を対象として多数日数をカバーして秤量食事記録法などによる詳細な食物摂取状況調査を行うことは、対象者の負担やコスト等を考えると現実的ではない。

そこで本研究では、残留農薬及びその他汚染物質の暴露評価の精密化を目的として、1年4季節（平日2日と休日1日を含む連続しない3日間）で食物摂取状況調査を実施し、多食者における特定食品の摂取量パターンを慢性暴露、急性暴露の両面から検討した。さらに我々は多食量摂取者を抽出するための半定量的な食物摂取頻度調査票（頻度調査票）を作成し、その活用方法について検討を行った。

### A. 研究目的

食品添加物及び汚染物質等の暴露に関するリスクアナリシスは、ますます重要性を増している。特に、暴露評価をより科学的に、またより実態に即した形で行うためには、個々の食品に対する摂取量データが必須である。厚生労働省の国民健康・栄養調査における食品摂取量データ等を用いて、これまでも残留農薬等の暴露量評価は行われてきた。しかし、食品群として大きく括った摂取重量の平均値を主に用いていたために、多食者における摂取実態を考慮することが出来ずに、急性暴露影響等の検討はほとんどされていない。

特に、近年、FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議（JMPR）や欧州連合、アメリカなどで残留農薬のリスク評価の際、慢性毒性だけではなく、1日の摂取による健康影響も評価し、健康

への悪影響がある場合には急性参照量を設定している。さらに、短期摂取量を推定し、健康リスクを判定している。Codex 委員会においては、短期摂取推定量が急性参照量を超える場合、基準値の採択はしないという決定がなされている。

本研究では、季節を考慮した1年12日間の国民健康・栄養調査に準じた食物摂取状況調査（世帯に対する秤量記録、比例案分法）を実施し、慢性暴露評価を主に想定して、習慣的な摂取量分布を求めた。また、急性暴露評価については、各季節3日間の食物摂取状況調査における、当該食品の摂取者のみを抽出して、体重kgあたりの1日間の摂取量分布を求めた。

さらに、今回我々が作成した「食品に注目した摂取量についての半定量的な頻度調査

票」を用いて、急性および慢性暴露評価において問題となる特定食品の「多食者」を選定し、「多食者」とそうではない者に分けて摂取量分布を検討した。

## B. 研究方法

### 1) 食物摂取状況調査の実施

平成16年～18年に調査協力が得られた地区を対象に、各年ともに5～6月（春）、8～9月（夏）、11～12月（秋）、2～3月（冬）の1年4季節（平日2日と休日1日を含む連続しない3日間）で調査を実施した。調査は調査初日から約2週間以内のうちに3日分の調査が終わるように各対象地区で調整を行った。調査内容は国民健康・栄養調査に準じたものであるが、本研究は個々の食品についての詳細な摂取量データが必要であるため、学校給食（もしくは保育所給食）については、調査当日の献立表等を収集し、調査員が実際に摂取した内容を把握した上で、調査票に記録した。

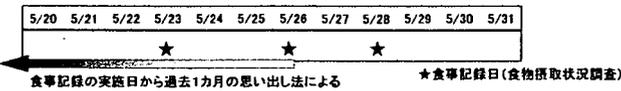
各地域で調査を担当した管理栄養士等調査員には、調査の実施に先立ち、あらかじめ作成した調査マニュアル（食品摂取量季節変動調査のてびき）等を用いて、十分なトレーニングを実施した。各対象世帯には事前に調査内容に関して十分な説明を行うとともに、食品を秤量するためのデジタルスケールTANITA製ペピタ1157）を配布した。計量が可能な食品に関しては所定の用紙に秤量した食品の重量を記録してもらい、外食や惣菜など個々の食材ごとに秤量が困難なものについては目安量を記入してもらった。さらに各料理に対して、世帯でどのように配分したかを示す案分比率を記入してもらった（比例案分法）。調査票の回収時には、管理栄養士等調査員が調査票のチェックを行い、不十分な回答の場合には対象者への聞き取りによる確認を実施し、必要に応じて追加・修正を行った。

### 2) 食品に注目した摂取量についての半定量的な頻度調査の実施

我々は特定の食品の「多食者」を把握するために「食品に注目した摂取量についての半定量的な頻度調査票」を作成した。その内容は、最近1ヶ月間の食事における特定の食品、野菜14品目（じゃがいも、だいこん、はくさい、キャベツ、こまつな、たまねぎ、ねぎ、レタス、にんじん、きゅうり、トマト、ピーマン、なす、ほうれんそう）、果物12品目（みかん、グレープフルーツ、りんご、なし、もも、ぶどう、柿、すいか、メロン、バナナ、パイナップル、いちご）の摂取頻度及び「多食者」における摂取量を把握することを目的とした半定量的な頻度調査票である。各食品は、1. 過去の国民栄養調査データから摂取頻度及び摂取量平均が高いもの、2. 総務省家計調査データ等により季節変動の大きいことが分かっているもの、3. 残留農薬や重金属等の汚染物質の暴露評価において重要度の高いもの、という点から選定した。食品ごとに、①最近1カ月に食べた頻度、②「1日当たりに食べた最大量」が「多食基準量」以上か否かを問う設問によってアンケートは構成されている。ここでの「多食基準量」とは、過去の国民栄養調査データから得られた各食品の摂取者における1日当たりの摂取量分布を参考として、およそ95パーセンタイル値に当たる量である。本研究では、この基準量以上食べたと回答した者を「多食量摂取者」、その以外の者を「普通量摂取者」と定義した。

このアンケート調査は、各季節に1回、食物摂取状況調査と同じ時期に実施した。対象となる各個人に自己記入をしてもらい、回収時に調査員が内容の確認を行った。

調査時期 例)5-6月調査の場合



「食品に注目した摂取量についてのアンケート」調査(自己記入方式)

例) Q1. 1日の食事で、じゃがいもを1個以上食べたことがありますか?

(「多食基準値量」:過去の国民栄養調査結果の95%タイル値)

「多食基準値量」以上 { 食べた → ①多食量摂取者  
食べていない → ②普通量摂取者

### 3) 解析対象者及び解析方法

解析対象者は、4季節12日間の食物摂取状況調査が完了し、さらに各季節に自己記入式で行った半定量的な頻度調査(「食品に注目した摂取量についてのアンケート」)のデータが揃っている20~64歳の969名(男性412名、女性557名)とした。得られたデータのうち、食物摂取状況調査に関しては、五訂増補日本食品標準成分表に準拠した食品データベースを有する、国民健康・栄養調査集計システム「国楽調」を用い、世帯で摂取した個々の食品の入力及び確認を行った。

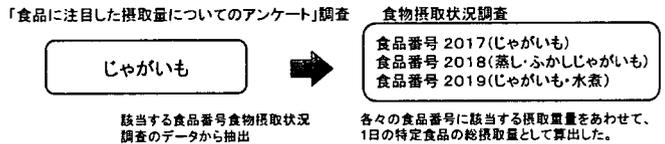
データの解析は「食品に注目した摂取量についてのアンケート」に掲載した野菜14品目、果物12品目にそれぞれ対応する形で、食物摂取状況調査のデータから必要に応じて複数の食品番号を括りながら、各季節における摂取者の割合および体重kgあたり摂取量の季節変動の検討を行った。

慢性暴露評価を主に想定して、習慣的な摂取量分布を求めた。また、急性暴露評価については、各季節3日間の食物摂取状況調査における、当該食品の摂取者のみを抽出して、体重kgあたりの1日間の摂取量分布を求めた。また多食者がどのくらい多く当該食品を1日に摂取しているかを示す指標として、「多食比」を定義した。すなわち、当該食品ごとに1日間の摂取量分布の99%タイル値を50%タイル値で割った値を求めた。一方、季節性を考慮するために、今回の検討では、国民健康・栄養調査が11月のデータであることから、摂取

者における11-12月の摂取量を基準として、他の季節における平均摂取量との比に加え、多食者における摂取量(95%タイル値)についても同様に季節比を示した。

さらに、急性および慢性暴露評価において問題となる特定食品の「多食者」を選定し、「多食者」とそうではない者に分けて摂取量分布を検討した。解析には、食物摂取状況調査の摂取量データ(のべ数)の中から、当該食品ごとに摂取者のみを抽出して使用した。

なお統計学的解析には、パッケージソフトウェアSAS version. 8を用いた。



## C. 研究結果

### 1) 対象者の属性

解析対象者の概要を表1に示す。男性412名の平均年齢49.4歳(標準偏差12.1)、BMI(Body Mass Index: 体重kg/(身長m)<sup>2</sup>)23.3(標準偏差3.0)であった。女性557名では、平均年齢48.8歳(標準偏差13.0)、BMI22.3(標準偏差2.9)であった。

### 2) 習慣的(年間平均)摂取量分布

各食品について年間12日間の平均摂取量を体重kgあたりで算出し、その分布をパーセントタイル値で示した(表2)。

体重kg換算とすると、代表値(50%タイル値)、多食量(95、97.5、99%タイル値)ともに、ほとんどの食品で男性よりも女性の方が多く摂取されていた。

### 3) 摂取者における季節別摂取量分布

各季節3日間の食物摂取状況調査のなかで、摂取している者のみを抽出して、食品ごとに体重kgあたりの摂取量分布、多食比、季節比

を表した（表3、4）。

結果は、基準（11～12月）に対して、野菜では、はくさいが5～6月、8～9月は0.5倍以下であった。一方、きゅうりでは8～9月は約2倍、トマトにおいても8～9月は約1.8倍であった。果物では、すいかが8～9月では男性で2.8倍、女性でも2.2倍であった。また2～3月ではすいか（男女）やぶどう（男性）の摂取者は見られなかった。他の野菜や果物に関しても季節による摂取者の人数、摂取量に大きな違いが認められた。

多食比では、99%タイル値に相当する多食者は、いずれの季節も50%タイル値に相当している者も、野菜では4～10倍、果物では2～10倍多く摂取していた。

ただし、果物では季節によって摂取している者が少ないため、データの解釈には留意が必要である。

#### 4) 多食量摂取者と普通量摂取者の摂取量分布

「多食量摂取者」と「普通量摂取者」の2群に分け、食物摂取状況調査から算出された体重kgあたりの摂取量分布を表5、6と図1に示した。

結果は、ほとんどの食品において、50%タイル値や多食量（95、97.5、99%タイル値）は、いずれも「多食量摂取者」では、「普通量摂取者」と比べて1.1～2倍程度多くの量を摂取していた。

#### D. 考察

国民栄養調査データは、わが国の国民全体の食品摂取実態を定量的に示す唯一のデータであるが、11月の平日1日のみの調査であることから、暴露評価に用いることには限界がある。これまでにも、各食品についての季節別の摂取量は報告されており、特に果物や緑黄色野菜の摂取量は月間変動、季節変動が大

きいことが報告されている。本研究で検討した季節別の摂取者における摂取量分布をみても分かるように、野菜類、果実類の季節による摂取者の数の相違、また11月を基準とした季節変動の季節比が明らかとなった。一方、季節変動の大きい果物は、ある一時点での調査では摂取者がいないという現状も明らかとなり、暴露評価を行う際には、ある特定の季節や数日間の調査では把握しきれないことが分かった。したがって、今回のような1年4季節で行った12日間の食物摂取量データは、慢性的な暴露評価に必要となる習慣的摂取量の把握、さらに短い期間での暴露が問題となる急性暴露評価の両面において、有用な情報であるといえる。

また、暴露評価を行う際には、各食品をどのくらい摂取しているのかを体重kgあたりの摂取量データで把握する必要がある。今回の結果からは、男性と女性の摂取量を比較してみると、絶対量としては男性の方が多く摂取しているが、体重kgあたりの摂取量ではほとんどの食品において女性の方が多く摂取していることが明らかとなった。

こうした特定食品の詳細データを得るために、大規模な集団で秤量食事記録法による調査を行うことは対象者の負担やコスト等を考えると現実的には容易なことではない。そこで、我々は特定食品の摂取頻度および摂取量を把握する方法として、特定食品における半定量的なアンケート調査を作成した。結果は、我々が定義した「多食量摂取者」は、ほとんどの食品において「普通量摂取者」よりも50%タイル値、95%タイル値、99%タイル値のいずれも大きく、多食量摂取者の摂取量分布全体が右にシフトしていた。

本研究の限界の一つとしては、2種類の調査（食物摂取状況調査、半定量的な頻度調査）の実施に時間のズレが生じていることが挙げられる。「食品に注目した摂取量についての

アンケート」は最近1カ月を振り返って回答するが、本研究の中では各季節とも食物摂取状況調査の実施に合わせて行っている。そのため、アンケートの回答が食物摂取状況調査の実施時よりも1ヶ月前からの摂取頻度について答えていることとなり、両者の調査実施時期にタイムラグが生じてしまっている。しかし、こうした特定の食品に注目した摂取量データの詳細な検討はわが国ではほとんど行われておらず、本研究で得られた参照データは食品のリスク評価を行う際の有用な情報源となる可能性が高い。

今後、国内外における規格基準案の検討や、マーケットバスケットに代表されるモニタリング調査を、より信頼性の高いものとするために、このような食品摂取量に関するデータの整備を進めることは益々重要となろう。

## E. 結論

残留農薬及びその他汚染物質の暴露評価の精密化を目的として、多食者における特定食品の摂取量パターンを慢性暴露、急性暴露の両面から検討した。その結果、体重kgあたりの摂取量データを男性と女性の摂取量を比較してみると、絶対量としては男性の方が多く摂取しているが、体重kgあたりの摂取量ではほとんどの食品において女性の方が多く摂取していることが明らかとなった。また、季節変動の大きい果物等は、ある一時点での調査では摂取者がいないという現状も明らかとなり、暴露評価を行う際には、ある特定の季節や数日間の調査では把握しきれないことが分かった。

多食量摂取者を抽出するための半定量的な食物摂取頻度調査票の結果では、今回我々が定義した「多食量摂取者」の方が、ほとんどの食品において「普通量摂取者」よりも50%タイル値、95%タイル値、99%タイル値のいずれも大きく、多食量摂取者の摂取量分布全体が右にシフトしていた。こうした特定の食品に注目した摂取量

データの詳細な検討はわが国ではほとんど行われておらず、本研究で得られた参照データは食品のリスク評価を行う際の有用な情報源となる可能性が高い。今後このような食品摂取量に関するデータの整備を進めることは益々重要となると考えられる。

## F. 研究発表

### 学会発表

なし

### 論文発表

- 1) Ishiwaki A, Yokoyama T, Fujii H, Saito K, Nozue M, Yoshita K, Yoshiike N : A statistical approach for estimating the distribution of usual dietary intake to assess nutritionally at-risk populations based on the new Japanese Dietary Reference Intakes (DRIs) : J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). 2007 Aug;53(4) : 337-44.
- 2) 石脇亜紗子、野末みほ、猿倉薫子、藤井絃子、荒井裕介、由田克士、吉池信男：残留農薬等暴露量推定を目的とした日本人成人における農作物の摂取量分布の検討 (submitted)

## G. 知的所有権の取得状況

なし